

Нижегородская медицинская академия

УТВЕРЖДАЮ:

Проректор по научной работе НГМА
д.м.н. профессор

Б.Е.Шахов

« 5 » 11 1999г.



О Т Ч Е Т

“Клиническая оценка антиоксидантной активности
биологически активной добавки к пище «БИОСКАН С».

Часть 1

К договору о сотрудничестве с ООО “РОСБИОПРОМ” (г. Саров).

Ответственный исполнитель:
Зав.каф. клинической лабораторной
диагностики ИПО НГМА
д.б.н. профессор
К.Н.Конторицкова

« 5 » 11 1999г.

Нижний Новгород
1999 г.

К настоящему времени создано множество биологически активных добавок к пище (БАД), в состав которых входят соединения и, прежде всего, витамины, обладающие известными антиоксидантными свойствами.

В 1997 году предприятие “Росбиопром” объединив усилия ученых Сарова (Российский Федеральный Ядерный Центр) и Нижнего Новгорода, задалось целью разработать и внедрить промышленные технологии выделения из природного сырья биологически активных веществ для искусственной регуляции количества свободных радикалов с целью устранения самых разных патологических процессов. Сегодня “Росбиопром” предлагает свою разработку — БАД **“Биоскан С”** (рег. удостоверение МЗ РФ N 000141.P.643.08.98, патент РФ № 2154967), изготовленную из лиственницы сибирской и БАД **“Биоскан +”** (рег. удостоверение МЗ РФ № см. на сайте www.rosbioprom.ru).

“Биоскан С” - это торговое название мощного антиоксиданта, состоящего на 95...98% из дигидрокверцетина (ДКВ) – вещества, которое относится к семейству биофлавоноидов (биофлавоноиды – питательные вещества, содержащиеся во многих растениях, и обладающие биологической активностью).

“Биоскан +” - это новый препарат, основу которого составляет **“Биоскан С”** и является композицией двух биологически активных веществ – дигидрокверцетина и аскорбиновой кислоты.

Предприятие “РОСБИОПРОМ” совместно с Нижегородской медицинской академией провело клинические испытания **“Биоскан С”** в геронтологическом центре больницы N3 Нижнего Новгорода, в Российском ожоговом центре (ННИИТО), в областном онкологическом центре, в детской больнице “Айболит 70” (бронхиальная астма), в дорожной больнице (ишемия нижних конечностей), в институте хирургии им. А.В.Вишневского РАМН (г. Москва).

СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЕ ОКИСЛЕНИЕ В ПАТОГЕНЕЗЕ БОЛЕЗНЕЙ ЧЕЛОВЕКА

За последнее столетие область медико-биологических знаний человечества чрезвычайно расширила свои пределы и достигла значительных глубин понимания фундаментальных процессов, происходящих в живом и, в частности, человеческом организме.

Одним из самых универсальных патогенных процессов, охватывающих любую живую клетку, любой участок межклеточного пространства является образование свободных радикалов (СР) - молекулярных образований, порой весьма различных по атомарному составу, но объединенных, в большинстве своем, двумя общими свойствами - они являются неперенными спутниками атмосферного кислорода (т.е. практически вездесущи) и обладают высочайшей химической активностью, как правило, деструктивного свойства.

В значительной степени губительной активностью свободных радикалов обусловлены такие явления, как старение клеток и организма в целом, гибель клеток, наследственные нарушения, нарушения обмена веществ, образование опухолей.

Образованию СР в организме способствует целый ряд процессов, являющихся неотъемлемой частью жизнедеятельности современного человека. Достаточно назвать только некоторые из них: стрессы любого рода; воспалительные процессы; токсические воздействия - от токсинов, образующихся в процессе жизнедеятельности самим организмом, до веществ, присутствующих в техногенных загрязнениях. Мощным инициатором образования СР из обычной воды, составляющей более половины массы любого теплокровного организма, является ионизирующее излучение. Наивно полагать, что в процессе эволюции живые системы не выработали естественного механизма защиты от воздействия столь распространенного поражающего фактора как СР. безусловно, такая защита есть, и защита весьма эффективная. Основу ее составляют вещества, относящиеся к различным классам химических соединений, но объединенные способностью переводить

СР в неактивное состояние. Эти вещества носят обобщающее название – антиоксиданты (АО). Механизмы их действия могут быть весьма различны - от непосредственного связывания свободнорадикальных групп, до повышения устойчивости клеточных структур и макромолекул к их повреждающему воздействию. При этом, в борьбе со СР принимают участие как собственные антиоксидантные вещества вырабатываемые организмом, так и АО, поступающие извне в составе пищи. Среди АО можно назвать витамины (С, Е, бета-каротин), минеральные вещества (соединения селена, магния, меди), некоторые аминокислоты, растительные полифенолы (например: флавоноиды).

Здесь нужно отметить, что основным внешним источником АО выступают продукты растительного происхождения если и подвергавшиеся кулинарной обработке, то лишь в незначительной степени. Для того, чтобы набрать физиологически необходимый минимум АО, удельная доля таких продуктов в ежедневном питании должна существенно превосходить долю всех остальных. В рационе же современного человека все чаще фигурируют продукты высокотехнологичной обработки, рафинированные, лишенные ценных природных качеств. А если еще принять во внимание постоянно увеличивающееся количество факторов, ведущих к образованию СР, налицо - очевидный дефицит АО у значительной части населения.

В связи с этим, возникает необходимость искусственной регуляции количества СР в организме с целью профилактики и устранения самых разных патологических процессов. Поиск эффективных средств для этого ведется начиная с выделения в 1928 году витамина С в чистом виде и заканчивая выпуском многокомпонентных антиоксидантных составов в наши дни. Наиболее активно продвигавшейся ветвью исследований и производства подобного рода в последнее время стало экстрагирование таких групп АО, как проантоцианы и флавоноиды из семян винограда, коры отдельных видов хвойных деревьев и некоторых других видов растительного сырья. Примером могут послужить многочисленные исследования японских ученых [*Haraguchi H, Mochida Y, Sakai S e.a., 1996*], работающих с экстрактами из традиционных для китайской и японской целительских школ чайных сборов. Принимая во внимание самую высокую среднюю продолжительность жизни в мире, которой отличается Япония, важность этих исследований трудно переоценить.

Следует подчеркнуть, что все вышесказанное касается смесей АО, содержание каждого компонента в которых весьма незначительно.

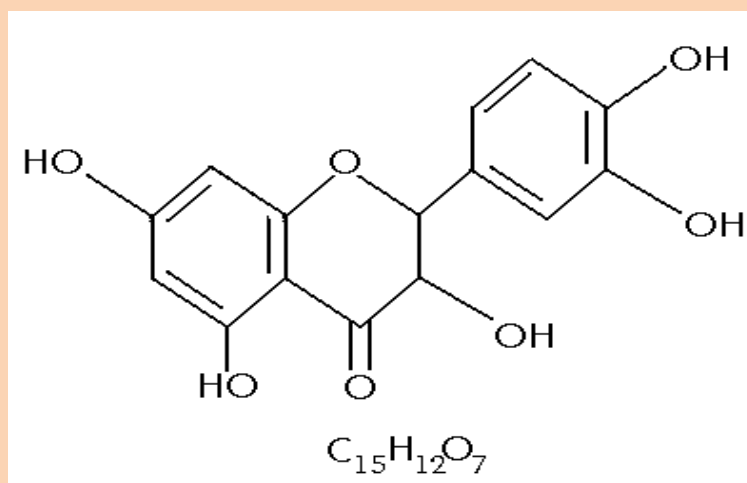
До недавнего времени существующие технологии позволяли выделять отдельные АО, обладающие высокой степенью активности, лишь в очень незначительных количествах. Делалось это в основном для лабораторных исследований того или иного АО в чистом виде, и стоимость таких препаратов была чрезвычайно высока, что связано с низким содержанием конечных веществ в исходном сырье, дороговизной самого сырья и низким технологическим выходом продукта (***цена одного грамма аналогичного западного препарата «Taxifolin» колеблется в зависимости от его чистоты от 20 до 640 \$***).

Но наука и связанные с ней производства не стоят на месте, и ООО «Росбиопром» предлагает - биологически активную добавку (БАД) – **“Биоскан С”** и качественно новый продукт - БАД **“Биоскан +”**.

БАД “БИОСКАН С” КАК АНТИОКСИДАНТ И СРЕДСТВО ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ

Биологически активные добавки как индивидуального, так и промышленного использования получили особенно широкое распространение в 90-е годы нашего столетия. В России при МГМСУ создана программа по тематическому усовершенствованию врачей “Значение биологически активных добавок в профилактической и клинической медицине”, что позволяет говорить о появлении новой, пограничной между наукой о питании и фармакологией области знаний, которую называют фармако-нутрициологией.

“Биоскан С” (регистрационное удостоверение МЗ РФ N 000141.P.643.08.98), предлагаемый предприятием «РОСБИОПРОМ», отличается от большинства многокомпонентных препаратов - парафамоцевтиков и нутрицевтиков тем, что в основном на 95-98% состоит из высокоактивного природного полифенольного соединения - дигидрокверцетина (ДКВ) (3,3',4',5,7-пентагидроксифлаванон), имеющего второе название таксифолин.



Структурная формула дигидрокверцетина.

Это вещество давно привлекает внимание исследователей высокой биологической активностью и широтой ее спектра. Однако внедрение в клиническую практику сдерживалось высокой стоимостью получения препарата в чистом виде.

Специалистами «РОСБИОПРОМ» разработана технология выделения его из древесины лиственницы, что позволило сделать БАД на его основе вполне доступной для отечественного здравоохранения.

ДКВ относится к классу биофлавоноидов и обладает высокой антиоксидантной и Р-витаминной активностью, подтвержденной многочисленными работами отечественных и зарубежных ученых. [Н.А. Тюкавкина, И.А. Руленко, Ю.А. Колесник, 1996]. Проявлениями этой активности являются его защитные свойства в отношении всех видов клеток, обеспечивающие им высокую жизнестойкость. Внешне это проявляется как замедление старческих изменений в тканях, снятие последствий негативного воздействия на них любых отрицательных факторов - от агрессивных химических агентов, до последствий нервных перегрузок. Организм же, в целом, избавляется от предвестников раннего старения и состояний, предшествующих развитию самых разнообразных патологических процессов (онкологических, ишемических, атеросклеротических, иммунодефицитных, токсических), что делает ДКВ исключительно ценным средством профилактики широкого спектра действия.

ДКВ обладает чрезвычайно низкой токсичностью и тератогенностью, что дает возможность широко варьировать содержание биологически активной добавки в

конечных продуктах, не опасаясь нежелательных эффектов, а также исключить любого рода противопоказания к их употреблению (возрастные, медицинские и т.д.)

Установлено, что ДКВ при различных патологических состояниях способен проявить себя как эффективное средство поддерживающей терапии. В ряде научных работ доказаны такое его свойство, как способность защищать сердечную мышцу от токсических воздействий в условиях ишемии, помогающее, таким образом, лечению ишемической болезни сердца. [Nakayama T, Yamada M, Osawa T, Kawakishi S, 1993]. Способность ДКВ снижать содержание в крови липопротеидов низкой плотности позволяет рассматривать ДКВ в качестве профилактического и лечебного средства против атеросклероза. [Igarashi K, Uchida Y, Murakami N, Mizutani K, Masuda H, 1996].

Тормозящее действие на разрастание опухолевой ткани, а также уничтожение клеток ряда зарождающихся злокачественных новообразований, подтвержденные опытами на клеточных культурах, позволяет рассчитывать на эффективность применения ДКВ в качестве противоопухолевого средства. [Kandaswami C, Perkins E, Drzewiecki G, Soloniuk DS, Middleton E Jr, 1992].

Регуляторное воздействие этого вещества на ряд реакций иммунной системы организма, на течение воспалительных процессов, характеризует его, как противоаллергическое и противовоспалительное средство, способное снизить повреждающее воздействие самых разных неблагоприятных факторов внешней среды - от промышленных загрязнений и инфекционных агентов, до бытовых аллергенов, а также выступать компонентом лечения воспалительных процессов самой разной природы. [Bronner C, Landry Y, 1985].

Одной из самых распространенных причин накопления в организме СР является воздействие самых разнообразных токсинов - начиная от ядовитых веществ, в избытке поставляемых в наши дни окружающей техногенной обстановкой, и кончая токсическими продуктами жизнедеятельности клеток и тканей в условиях большинства патологических процессов. ДКВ, воздействуя на это звено патологических цепочек, облегчает течение обменных, инфекционных, эндокринных и других видов заболеваний. Помимо борьбы с последствиями попадания в организм токсинов на уровне СР, ДКВ обладает и ярко выраженными прямыми противотоксическими свойствами, подтвержденными рядом научных работ [Wickramasinghe SN, Hasan R, Khalpey Z, 1996].

Имеются экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что ДКВ тормозит развитие и снижает вредоносное действие ряда вирусных культур, что позволяет рассматривать его еще и в качестве противовирусного препарата. [Biziagos E, Crance JM, Passagot J, Deloince R, 1987].

Повышение устойчивости тканей организма к повреждающему воздействию повышенного содержания сахара в крови, вызываемое ДКВ, дает возможность снизить вероятность заболевания диабетом, а также облегчить течение многих развившихся его форм [Haraguchi H, Ohmi I, Fukuda A, Tamura Y, Mizutani K, Tanaka O, Chou WH, 1997].

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА “БИОСКАН С” У БОЛЬНЫХ С ОЖГОВОЙ ТРАВМОЙ.

НИИ травматологии и ортопедии, г. Н.Новгород

Перетягин С.П., Вилков С.А., Стручков А.А., Борисевич А.Л., Костина О.В., Иванова И.И.,
Евстигнеев Е.В., Чернышев С.Н., Васин В.В., Конторщикова К.Н., Нижегородская
медицинская академия, [ООО «Росбиопром»](http://www.rosbioprom.ru).

В последние годы в комбустиологии отмечается увеличение летальности от ожогов (с 2,1 % в 1990 году до 3,3 % в 1997 году). При глубоких ожогах более 30% поверхности тела она достигает 90-95%. В связи с этим разработка новых и совершенствование существующих методов лечения тяжело обожженных является одной из важных задач комбустиологии.

Термическая травма обуславливала развитие комплекса биохимических реакций, приводящих к появлению активных форм кислорода, что подтверждается усилением интенсивности хемилюминесценции в крови пострадавших. Наряду с этим факторами,

приводящими к интенсификации реакций свободно-радикального окисления могут служить ряд факторов комплексной терапии ожоговой терапии - в первую очередь средства эфферентной терапии: окислители (ГБО, озон, гипохлорид натрия), плазмо- и гемосорбция, квантовая терапия и др.

Целью данного исследования явилось исследование эффективности включения в комплексную терапию больных с обширными, критическими и сверхкритическими ожогами биологически активной добавки к пище **“Биоскан С”**.

В соответствии с поставленной целью были проведены исследования на 41 больном с обширными критическими и сверхкритическими ожогами в возрасте 18-63 года с площадью термического поражения от 30 до 98% поверхности тела 11-111А, Б -1V степени.

Все больные были разделены на 3 группы по признаку использования в составе комплексной терапии ожоговой болезни антиоксиданта и окислителя - озона. В комплексную терапию входили: ранняя и проводимая в полном объеме медикаментозная терапия и инфузионно-трансфузионная терапия, создание оптимальных условий для стабилизации энергетического гомеостаза тяжелообожженных (лечение на кроватях “Клиниatron”, использование установок для обдувания подогретым воздухом), интенсивное местное лечение ожоговой поверхности (ранние некроэктомии, сокращение сроков восстановления утраченных кожных покровов), применение средств активной эфферентной терапии (плазмаферез и гемосорбция). 10 пациентов, получавших подобную комплексную терапию составили контрольную группу. Вторая группа, включающая 14 больных, которым в составе инфузионно-трансфузионной терапии системно применяли парентеральные методы использования озона (внутривенное капельное введение озонированного 0,9% раствора NaCl, большая аутогемотерапия с озоном). Третью группу составили 17 больных, которым одновременно с озонотерапией применяли **“Биоскан С”**. Препарат назначался по 5 мл 3 раза в день на курс в течение 10-12 дней, начиная со 2-3 дня после перенесения термической травмы.

Критериями оценки эффективности препарата являлись:

- параметры общего состояния больного;
- степень вегетации микробов в ожоговых ранах;
- данные клинико-лабораторных методов обследования (биохемилюминесцентный контроль за состоянием перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности плазмы, биохимические анализы крови, общий анализ крови).

Результаты исследований.

В ходе клинического изучения **“Биоскан С”** не было выявлено осложнений. Данные биохемилюминесценции свидетельствуют о том, что в контрольной группе больных, получавших стандартное общепринятое лечение, не отмечалось изменений в показателях ХЛ (табл.4). В группе больных, которым в курс лечения включали озон, имело место достоверное снижение интенсивности ХЛ - I max с неизменными показателями светосуммы ХЛ - S. Учитывая тот факт, что у больных с ожоговой травмой увеличивается содержание свободных жирных кислот (СЖК) в плазме, снижение I max можно объяснить именно этим. Поэтому особое внимание мы уделили коэффициенту I max/S, при расчете которого не требуется наличия СЖК. Согласно указанного коэффициента, имеет место снижение антиоксидантной активности при использовании озона. В группе больных, получавших озон в сочетании с **“Биоскан С”**, по сравнению с исходными показателями как на 5 день, так и в конце курса лечения достоверно увеличивалась антиоксидантная активность (почти в 2 раза). Значительное снижение активности ПОЛ можно объяснить хелатирующей способностью карбонильной группировки молекулы дигидрокверцетина (Тюкавкина Н.А. с соавт., 1996), а также способностью взаимодействовать с липидными радикалами (Теселкин Ю.А. 1994).

Таблица 4

Интенсивность ХЛ у больных с ожоговой травмой при различных видах лечения

Группы больных	Показатели ХЛ		
	I _{max}	S	I/S
Контроль	4,073 + 0,789	30,62+8,30	0,133+0,095
	3,469 +0,599	25,69 +4,72	0,135+0,076
	4,218 + 0,442	33,14 +5,67	0,127+0,077
Озон	5,477 +0,108	22,52+2,65	0,243+0,040
	2,720 +0,330 *	20,54 +2,31	0,132+0,042*
	2,896 +0,469 *	20,39 +1,54	0,142+0,034 *
Озон +	2,745 +0,233	25,77+0,87	0,106+0,026
	3,318+0,267	16,52+0,81 *	0,200+0,032*
Биоскан	3,100+0,458	15,21+1,20 *	0,203+0,038*

* - достоверность различий по сравнению с исходным состоянием.

При анализе молекулярных продуктов ПОЛ (табл.5) подтвержден антиоксидантный эффект “**Биоскан С**”. Так в контрольной группе больных и больных, получавших озон, не отмечалось достоверных изменений первичных и конечных продуктов ПОЛ. В третьей группе больных, дополнительно к озону получавших “**Биоскан С**”, эти продукты достоверно снижались в конце курса лечения по сравнению с исходным состоянием.

Таблица 5

Уровни молекулярных продуктов ПОЛ у больных с ожоговой травмой в зависимости от лечения.

Группы больных	Показатели ПОЛ				
		ДК	Т К	ОШ	ДК/ОШ
Контроль	до	0,089 +0,002	0,014+0,001	10,13+2,6	0,0087
	после	0,091 +0,001	0,015+0,001	11,80+3,1	0,0077
Озон	до	0,095 +0,003	0,017+0,002	13,87+3,9	0,0070
	после	0,120+ 0,002	0,016 +0,001	17,91+4,4	0,0067
Озон + Биоскан	до	0,103+0,002	0,021+0,001	15,76+3,7	0,0065
	после	0,065+0,003*	0,016+0,002*	9,45+4,2*	0,0068

* - достоверность различий по сравнению с исходным состоянием.

Таким образом, эффект снижения активности ПОЛ у больных с ожоговой травмой наблюдается только при совместном действии озона и антиоксиданта.

Тяжелые последствия ожоговой травмы определяются, в том числе и нарушениями углеводного обмена. Повышение уровней глюкозы в контрольной группе свидетельствует о нарушении использования глюкозы для энергетических процессов аэробным путем в условиях гипоксии. В результате лечения имело место нормализация в содержании глюкозы в группах больных 1 и 2 к 10 дню ожоговой болезни (в среднем снижение на 35%), этот эффект быстрее достигался в группе больных с одновременным получением

озона и “**Биоскан С**” (табл. 6). Можно сделать предположение о восстановлении энергетических процессов в организме в процессе лечения, идущих в основном за счет потребления глюкозы.

Таблица 6

Биохимические показатели крови больных с ожоговой травмой в зависимости от вида лечения.

Показатели	Группы	Курс лечения		
		Исходное состояние	Через 5 дней	Конец
Глюкоза	контр.	5,43+0,37	5,15+0,54	5,95+0,88
	Озон	7,11+0,77	5,61+0,56	4,91+0,38*
	Биоскан	8,42+1,07	5,50+0,68	5,52+0,36*
Общ. белок	контр.	50,11+2,31	52,41+2,69	59,28+4,16
	Озон	53,14+2,62	63,3+3,34 *	64,94+4,25*
	Биоскан	57,85+2,73	67,54+2,89*	69,50+2,86*
Альбум.	контр.	28,54+1,54	25,66+1,21	30,14+2,28
	Озон	28,22+2,56	31,32+1,77	30,40+1,28
	Биоскан	26,35+1,91	36,91+0,85 *	33,58+2,14*
Глобулины	контр.	24,22+ 1,33	26,90+1,91	31,19+ 1,92*
	Озон	23,03+2,54	31,80+1,11*	28,77 +2,53*
	Биоскан	33,27+1,24	33,94+1,96	30,94+1,98
Мочевина	контр.	4,94+0,68	3,80+1,77	6,41+ 0,84*
	Озон	4,95+0,35	6,11+ 0,85	5,06+ 0,26
	Биоскан	6,02+0,54	6,08+0,50	5,56+0,58
Асат	контр.	51,90+5,50	39,8+2,90	95,31+12,42*
	Озон	48,91+9,32	53,76+14,56	41,33+4,75
	Биоскан	53,70+9,40	48,61+7,29	27,68+3,45*
Алат	контр.	38,93+1,71	20,12+3,60 *	38,41+9,56
	Озон	27,12+ 6,67	33,86+7,10	26,87+5,55
	Биоскан	49,07+13,42	53,23+6,98	55,04+14,08

* - достоверность различий по сравнению с исходным состоянием.

Изменения в содержании белков плазмы крови отмечаются непосредственно после травмы. Уже через несколько часов после ожога развивается гипопроотеинемия и сдвиг во фракции белков крови: снижение уровней альбумина и повышение глобулинов. Указанные изменения могут быть вызваны рядом причин: перераспределение белков между сосудистым руслом и тканями, протеинурией, резким усилением протеолиза, нарушением синтетической функции печени в отношении белков плазмы.

К концу курса лечения, в контрольной группе больных, содержание общего белка увеличилось на 18%, в группе больных, получавших дополнительно озон - на 20% и в группе больных, в лечение которых включался помимо озона и “**Биоскан С**”- на 22%, соответственно, по сравнению с исходными значениями. Содержание глобулинов во всех трех группах было в пределах нормы в течение всего курса лечения. Через 10 дней у больных контрольной группы и больных, получавших озон, содержание альбумина было

без изменения. В группе пациентов, принимавших **“Биоскан С”**, наблюдалась отчетливая тенденция к нормализации уровня альбумина.

Анализ уровней мочевины, как показателя интенсивности распада белков, показал повышение до верхней границы нормы этого показателя в контрольной группе к 5 дню. У больных, получавших озон, к середине курса лечения имело место достоверное повышение этого показателя с последующим снижением до нормы.

В группе больных, получавших **“Биоскан С”**, содержание мочевины не изменялось за весь период лечения.

Повышение активности фермента аспартатаминотрансферазы в 2 раза к 10 дню ожоговой болезни в контрольной группе можно объяснить выходом этого фермента из различных тканей. При использовании озона активность этого фермента увеличивалась по сравнению с нормой на 10%, но в конце курса лечения на 15% снижалась. В крови больных, получавших **“Биоскан С”**, отмечалось снижение активности этого фермента в 2 раза, что указывает на мембраностабилизирующий эффект этого препарата. Что касается активности фермента аланинаминотрансферазы (Алат), активность этого фермента мало изменялась при всех изученных видах лечения. Кроме того, этот показатель не отличался существенно от нормы, поэтому наряду с восстановлением активности аспартатаминотрансферазы (Асат) это указывает на восстановление стабилизации мембран клеток в различных органах, в том числе и в печени, особенно при включении в курс лечения антиоксиданта **“Биоскан С”**.

Специалисты ожогового центра отмечают большую стабильность витальных функций организма, позитивную динамику показателей токсемии, лейкоцитарного индекса интоксикации. Только у больных, принимавших **“Биоскан С”**, имело место достоверное снижение количества лейкоцитов с $11,30$ до $8,93 \times 10$.

Таким образом, на основании проведенных исследований у различных групп больных продемонстрирована антиоксидантная активность препарата **“Биоскан С”**.

Антиоксидантный эффект, проявляющийся в снижении интенсивности ХЛ сыворотки крови больных и уровней молекулярных продуктов ПОЛ, способствует стабилизации мембранных структур организма и нормализации метаболических процессов углеводного, липидного и белкового обменов.